

Apoptotic Changes in Kidney Induced by Ischemia : An Ischemia-reperfusion Model Using Mice with a Deficit in Fas-mediated Apoptosis

著者	立浪 康晴
号	23
学位授与番号	158
URL	http://hdl.handle.net/10097/36275

氏 名 (本籍)	たち 立	なみ 浪	やす 康	はる 晴
学 位 の 種 類	博 士 (歯 学)			
学 位 記 番 号	歯 博 第 1 5 8 号			
学位授与年月日	平 成 1 0 年 3 月 2 5 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科・専攻	東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯学臨床系			
学位論文題目	Apoptotic Changes in Kidney Induced by Ischemia: An Ischemia-reperfusion Model Using Mice with a Deficit in Fas-mediated Apoptosis (腎における虚血によるアポトーシスの発現 に関する研究 — Fas 介在性アポトーシス異 常マウスを用いた腎虚血 — 再灌流モデルに よる検討 —)			
	(主査)			
論文審査委員	教授 岩 月 尚 文	教授 奥 田 禮 一		
		教授 茂 木 克 俊		

論文内容要旨

近年、顎顔面口腔領域においても外科手術の複雑化、長時間化に伴う侵襲の増大等により、一方では患者の高齢化、リスクの増大化により、周術期に循環不全により主要臓器が虚血負荷にさらされる機会が増加している。従って、腎における虚血障害についての病態変化を知ることは、周術期患者管理の上で重要なこととなる。近年、虚血性腎障害においてアポトーシスの関与が注目されている。本研究では、Fas 介在性アポトーシス異常マウスを用いて、虚血性腎障害における Fas 介在性のアポトーシスの関与について検討した。Fas 抗原欠損マウスとして C3H/*lpr*, MRL/*lpr*, Fas リガンド (FasL) 欠損マウスとして C3H/*gld*, MRL/*gld*, さらに正常コントロールとして C3H/+ , MRL/+ マウスを用いた。マウスの系と処置法により以下のごとく 5Group (G) に分けた。G I : C3H/+ マウスの右腎に15分, 30分, 60分, 120分の虚血処置後再灌流し, 3日後に摘出。G II : 各 C3H/+ , C3H/*lpr*, C3H/*gld* マウスの右腎に60分虚血後再灌流処置を施し, 1日後に摘出。G III : G II と同じ組み合わせのマウスに処置後, 3日後に腎摘出。G IV : MRL/+ , MRL/*lpr*, MRL/*gld* マウスの右腎に60分虚血後再灌流処置を施し, 1日後に摘出。G V : G IV と同じ組み合わせのマウスに処置後, 3日後に腎摘出。摘出腎は TUNEL 法にてアポトーシス発現細胞を同定し, 各群についてアポトーシス陽性数を定量的に測定した。また同標本の HE 標本作製し, 病理組織学的変化についても検索した。GI においては, 虚血時間の延長に伴い, TUNEL 陽性細胞の発現頻度が有意に増大した。G II ~ V において, *lpr* あるいは *gld* マウスにおける TUNEL 陽性細胞数の発現頻度はコントロールマウスに比較し, 有意に低かった。また, 以上の結果は C3H および MRL 系マウスいずれにおいても差がなく, 背景遺伝子による違いはないと推定された。さらにアポトーシス発現には虚血後から摘出までの時間による違いも認められなかった。病理組織学的検討において, 尿細管の拡張, 蛋白円柱・細胞質円柱の出現, 尿細管上皮細胞質の染色性の好酸性化, 核濃縮等の変化が認められ, その発現頻度および程度は TUNEL 陽性細胞の発現と類似した傾向がみられた。以上より, 腎虚血によるアポトーシスの発現には, Fas 抗原および FasL が強く関与しており, さらに虚血における腎障害の病理組織学的変化において, Fas 介在性のアポトーシスが重要な役割を演じている可能性が示唆された。

審 査 結 果 要 旨

近年、歯科麻酔領域において腎虚血が問題となる症例が増大する傾向にあり、虚血腎の病態変化を把握しておくことが重要となってきた。虚血による急性腎不全はこれまで急性尿細管壊死等のネクロシスを主体とした病態として捉えられてきた。しかし、近年アポトーシスという細胞死の概念が広まってきたのに伴い、虚血性腎障害においてもアポトーシスの関与が示唆されている。

本研究では、Fas 抗原欠損マウスとして C3H/*lpr*, MRL/*lpr*, Fas リガンド (FasL) 欠損マウスとして C3H/*gld*, MRL/*gld*, さらに正常コントロールとして C3H/+, MRL/+ マウスを用いて、虚血性腎障害における Fas 介在性のアポトーシスの関与について TUNEL 法を用いて定量的に検討した。さらに、病理組織学的所見を数量化し、アポトーシスの発現との関連についても検討したところ、以下の結果が得られた。

- (1) マウスの系統 (C3H, MRL), および Fas 関連遺伝子の有無 (+/*lpr*/*gld*) を問わず、すべてのマウスにおいて、虚血腎では非虚血腎と比較して、アポトーシスの発現頻度が有意に高かった。
- (2) 虚血時間の延長に伴い、アポトーシスの発現頻度が有意に増大した。
- (3) 非虚血腎において、欠損マウス (*lpr* & *gld*) におけるアポトーシスの発現頻度は、コントロール正常マウスに比較し、低かった。
- (4) 虚血腎において、*lpr* あるいは *gld* マウスにおけるアポトーシスの発現頻度はコントロールマウスに比較し、有意に低かった。
- (5) (3), (4) の結果は、C3H および MRL 系マウスのいずれにおいても認められ、背景遺伝子による違いは認められなかった。
- (6) (4) の結果において、虚血再灌流後、標本摘出までの時間 (1 日後と 3 日後) による違いは、認められなかった。
- (7) 病理組織学的検討において、腎への虚血 — 再灌流により主として尿細管に変化が認められ、その障害の程度は、アポトーシスの発現頻度と関連する傾向が示された。

これらの結果は、腎虚血によりアポトーシスが発現し、その発現に Fas 抗原および FasL が強く関与しており、さらに虚血における腎障害の病理組織学的変化において、Fas 介在性のアポトーシスが重要な役割を演じている可能性を示唆するものである。

以上本論文は、虚血性腎障害における Fas 介在性のアポトーシスの関与について新しい知見を得ていると共に、アポトーシスの発現が虚血性腎障害の初期を捉える指標となる可能性を示しており、今後の臓器虚血障害に関する基礎研究ならびに、虚血障害の予防、治療に関する臨床研究に寄与するところが大きい。よって、本論文は、博士 (歯学) の学位授与に値するものと判定される。